**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Aplicação de extratos de acerola (*Malpighia emarginata*) em
emulsões lipídicas**

Jessica Bomtorin Aranha

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência
e Tecnologia de Alimentos

**Piracicaba
2018**

Jessica Bomtorin Aranha
Bacharela em Ciências dos Alimentos

Aplicação de extratos de acerola (*Malpighia emarginata*) em emulsões lipídicas

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:

Profa. Dra. **THAIS MARIA FERREIRA DE SOUZA VIEIRA**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Ciência
e Tecnologia de Alimentos

Piracicaba
2018

RESUMO

Aplicação de extratos de acerola (*Malpighia emarginata*) em emulsões lipídicas

A oxidação lipídica é uma das causas de deterioração e perda de qualidade dos alimentos. Com a intenção de reduzir ou inibir essa reação, são empregados antioxidantes sintéticos. No entanto, com a crescente preocupação sobre o efeito dos mesmos sobre a saúde, diversas pesquisas têm por objetivo buscar alternativas de fontes naturais. A atividade antioxidante de frutas tem sido muito estudada. A acerola se destaca devido aos seus componentes, como o ácido ascórbico, compostos fenólicos, carotenoides e antocianinas, conferindo elevada capacidade antioxidante, principalmente no estágio de maturação verde, o qual pode ser explorado como base para aditivo para a indústria alimentícia. A técnica de microencapsulação pode facilitar a aplicação, proteger os compostos ativos e favorecer sua liberação controlada em um produto. O objetivo deste trabalho foi obter extratos de frutos de acerola em condições otimizadas e submetê-los ao processo de microencapsulação, visando avaliar seu potencial de aplicação como antioxidante em emulsão lipídica. Foi realizada a otimização da extração de compostos ativos de amostras de frutos verdes e maduros de acerola por meio da metodologia de Superfície de Resposta, em que foram determinados os efeitos da proporção amostra:solvente e tempo sobre a atividade antioxidante (DPPH e ABTS) e compostos fenólicos totais (CFT). Os extratos obtidos em condições otimizadas foram caracterizados quanto ao teor de compostos fenólicos totais (CFT), atividade antioxidante (DPPH, ABTS, ORAC-H e FRAP), teores de ácido ascórbico e compostos fenólicos (clorogênico, ferúlico e *p*-cumárico). O extrato com maior atividade antioxidante foi selecionado para a obtenção de micropartículas por *spray drying*, com adição de goma arábica e maltodextrina. As micropartículas foram caracterizadas (umidade, aw, solubilidade, higroscopicidade, tamanho de partículas), avaliadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e também quanto à manutenção da atividade antioxidante. As micropartículas, o extrato aquoso de acerola otimizado e o antioxidante sintético TBHQ (Terci-Butil-Hidroquinona) foram aplicados em sistema modelo de emulsão em concentrações de até 200 mg. Kg⁻¹. As emulsões foram submetidas ao teste acelerado de oxidação a 40°C por 9 dias, com acompanhamento da variação do teor de hidroperóxidos, dienos conjugados e índice de cremeação (CI) a cada 3 dias. A otimização propiciou a obtenção de extratos com elevada atividade antioxidante. Para os frutos maduros a melhor proporção amostra:solvente (água) foi de 1:30, já para frutos verdes foi de 1:40. O tempo ótimo identificado foi 10 minutos de extração. Os extratos de frutos verdes apresentaram atividade antioxidante superior aos de frutos maduros, bem como elevadas concentrações de ácido ascórbico e ácidos fenólicos. As micropartículas apresentaram baixa umidade e atividade de água. A maior solubilidade e menor higroscopicidade foi verificada nas produzidas com maltodextrina. Ambas apresentaram partículas pequenas e características tecnológicas adequadas para aplicação em alimentos; entretanto a micropartícula produzida com goma arábica se destacou pelo elevado rendimento no processo e proteção da atividade antioxidante. Os tratamentos com a adição de micropartículas em emulsões apresentaram efeito protetor significativo e semelhante ao antioxidante sintético TBHQ nas concentrações de 100 e 200 mg.kg⁻¹ na avaliação da oxidação lipídica. No entanto, o efeito protetor conferido pela adição de micropartículas com goma arábica e de mistura de micropartículas a 200 mg.kg⁻¹ permitiram maior controle do processo oxidativo, com a observação de baixos teores de hidroperóxidos, dienos conjugados e menores índices de cremeação durante o teste acelerado. Conclui-se que extratos microencapsulados de frutos verdes de acerola são promissores para aplicação em emulsões lipídicas e apresentam potencial para substituir antioxidantes sintéticos em alimentos e cosméticos.

Palavras-chave: Antioxidante; Otimização; Acerola verde; Acerola madura; Microencapsulação

ABSTRACT

Application of acerola extracts (*Malpighia emarginata*) in lipid emulsions

Lipid oxidation is one of the major causes of deterioration and loss of food quality. Synthetic antioxidants are applied in order to reduce or inhibit this reaction. However, with growing concern about health aspects of these antioxidants, several research aims to find alternatives from natural sources. The antioxidant activity in fruits has been studied. Acerola stands out due to its components, such as ascorbic acid, phenolic compounds, carotenoids and anthocyanins, that may be related to high antioxidant capacity, specially at the green maturation stage, which can be exploited as an additive for the food industry. The microencapsulation technique may facilitate its application by protecting the compounds and promoting controlled release of active compounds. The objective of this work was to obtain extracts of acerola fruit under optimized conditions and to submit them to the microencapsulation process, aiming to evaluate its potential application as antioxidant in lipid emulsion. The optimization of the extraction of active compounds from green and ripe acerola fruits was achieved through response surface methodology, in which the effects of proportion sample:solvent and time on the antioxidant activity (DPPH and ABTS) and total phenolic compounds (TPC) were determined. The extracts obtained under optimized conditions were characterized as the content of total phenolic compounds (TPC), antioxidant activity (DPPH, ABTS, ORAC-H and FRAP), ascorbic acid and phenolic compounds (chlorogenic, ferulic, and p-coumaric acids). The extract with greater antioxidant activity was selected to obtain microparticles by spray drying, with addition of gum arabic and maltodextrin. The microparticles were characterized (moisture, water activity, hygroscopicity, solubility, particle size), evaluated by scanning electron microscopy (SEM) and the maintenance of the antioxidant activity. The microparticles, the optimized aqueous acerola extract and the synthetic antioxidant TBHQ (tert-butyl-hydroquinone) were applied in model system of emulsion in concentrations up to 200 mg. Kg⁻¹. The emulsions were subjected to accelerated oxidation test at 40°C for 9 days, with monitoring of the variation of the hydroperoxides content, conjugated dienes and creaming index (CI) every 3 days. The optimization promoted the obtention of extracts with high antioxidant activity. For the ripe fruits the best sample:solvent (water) ratio was 1:30 and for green fruits it was 1:40. Optimum time identified was 10 minutes of extraction. The extracts of green fruits showed higher antioxidant activity than mature fruits, as well as higher concentrations of ascorbic acid and phenolic acids. The microparticles had low moisture content and water activity. The greater solubility and lower hygroscopicity was observed in those produced with maltodextrin. Both showed small particles and technological characteristics suitable for application in food; however the microparticle produced with gum arabic was distinguished by the high yield in the process and protection of the antioxidant activity. The treatments with addition of microparticles in emulsions showed significant protective effect similar to the synthetic antioxidant (TBHQ) at concentrations of 100 and 200 mg.kg⁻¹ in the evaluation of lipid oxidation. However, the protective effect conferred by the addition of microparticles with gum arabic and a mixture of microparticles at 200 mg.kg⁻¹ allowed the greater control of the oxidative process, with the observation of low hydroperoxides content, conjugated dienes and lower creaming index during the accelerated test. It is concluded that microencapsulated extracts of green acerola fruits are promising for application in lipid emulsions and show a potential to replace synthetic antioxidants in food and cosmetics.

Keywords: Antioxidants; Optimization; Green acerola; Ripe acerola; Microencapsulation

1. INTRODUÇÃO

A oxidação lipídica é considerada uma das reações mais preocupantes na indústria de alimentos, a qual pode ocorrer principalmente em produtos com elevados teores lipídicos, como emulsões e óleos. Esta reação é apontada como uma das causas que levam a deterioração e perda de qualidade de alimentos (MCCLEMENTS, 2005; RIES; HAISMAN; SINGH, 2010; BERTON-CARABIN; ROPERS; GENOT, 2014). Na oxidação lipídica, as reações desencadeadas por fatores pró-oxidantes, favorecem a formação de compostos primários, como os hidroperóxidos, que por sua vez se decompõem ao decorrer da reação. A decomposição dos hidroperóxidos propicia a formação de compostos secundários, que são responsáveis pelas alterações de textura, aparência, sabor e a formação de *off-flavors*, os quais reduzem o valor nutricional, bem como a aceitabilidade de produtos (MCCLEMENTS; DECKER, 2000; KARGAR; SPYROPOULOS; NORTON, 2011). Além disso, há relatos da formação de compostos altamente tóxicos ao organismo humano (KUBOW, 1992; PAPUC et al., 2017).

Em óleos e emulsões lipídicas a oxidação apresenta intensidades diferentes. Em sistemas de emulsões lipídicas do tipo óleo em água, a oxidação apresenta taxas maiores do que em óleo, devido à complexidade, bem como maior exposição da fase aquosa aos fatores que induzem o processo oxidativo, como o oxigênio e metais, que se difundem entre a área interfacial entre óleo e a água (BERTON-CARABIN; ROPERS; GENOT, 2014).

Com o emprego de antioxidantes sintéticos é possível retardar a oxidação lipídica, por diversos mecanismos de ação, como a doação de hidrogênios para os radicais livres, interrupção de reações (SHAHIDI, 2015), pela complexação de metais, sequestro do oxigênio, desativação de oxigênio singlete e metais, entre outros (DECKER, 2002). Os principais antioxidantes empregados atualmente no setor de alimentos e cosméticos para óleos e gorduras são os sintéticos, como o BHA (butil-hidroxianisol), BHT (butil-hidroxitolueno), TBHQ (Terc-Butil-Hidroquinona) e PG (propil galato) (O'BRIEN, 2009). No entanto, há evidências de efeitos deletérios ao organismo causados pelo consumo desses antioxidantes, trazendo grandes preocupações aos consumidores (LI et al., 2014). Diante dessa temática, pesquisadores buscam alternativas de antioxidantes provenientes de fontes naturais (CHAN et al., 2012), devido ao potencial antioxidante apresentado por compostos extraídos de diferentes fontes vegetais.

Em óleos e emulsões alimentícias, há trabalhos na exploração de antioxidantes de origem vegetal e estes têm se mostrado muito promissores. Entre os trabalhos, há aplicação de diferentes fontes, como ervas e condimentos, folhas de vegetais, própolis, entre outros, visando avaliar a estabilidade oxidativa de óleos e produtos de alto teor lipídico (FRANKEL et al., 1996; GALLEGU et al., 2013; TAGHVAEI et al., 2014; REIS et al., 2017). O uso de frutas ou extratos de frutas como potencial antioxidante em óleos e emulsões alimentícias ainda é pouco explorado.

A atividade antioxidante *in vitro* de extratos de frutas tem sido estudada visando o emprego como suplementos em produtos alimentares e farmacêuticos (RUFINO et al., 2010; RIGHETTO; NETTO, 2005; DELVA; GOODRICH-SCHNEIDER, 2013). Dentre as frutas, há grande interesse no uso da acerola, devido aos seus componentes, tais como compostos fenólicos, ácido ascórbico

(DOOLAEGE et al., 2011), carotenoides e antocianinas (VENDRAMINI; TRUGO, 2000; LIMA et al., 2006), o quais podem trazer benefícios a saúde. Os compostos presentes na acerola provêm elevada capacidade antioxidante em sistemas *in vitro*, principalmente o estágio de maturação verde (DELVA; GOODRICH-SCHNEIDER, 2013), que pode ser explorada para a inserção em óleos e emulsões na indústria alimentícia como alternativa aos antioxidantes sintéticos (SAIKIA; MAHNOT; MAHANTA, 2015). No entanto, há a necessidade de estudos que viabilizem o emprego da acerola em produtos alimentares, os quais podem contribuir na inibição da oxidação lipídica, com propriedades tecnológicas interessantes, além de facilitar a aplicação dos mesmos na indústria de alimentos.

A técnica de microencapsulação por *spray dryer* tem sido utilizada na obtenção de produtos em pó, pela atomização do produto. Esse processo garante a proteção de compostos instáveis, os quais são envoltos por um material de parede para a formação de uma micropartícula (SANGUANSRI; AUGUSTIN, 2010). O produto resultante, a micropartícula, pode ser empregada em diferentes produtos, como é o caso de emulsões, pois alguns materiais encapsulantes (maltodextrinas, pectinas, gomas e as proteínas) possuem propriedades tecnológicas interessantes, com destaque para a ação emulsificante (TAHERIAN et al. 2011; MCCLEMENTS; DECKER, 2000). Além disso, o processo de microencapsulação (FANG; BHANDARI, 2011) pode garantir uma proteção aos compostos de interesse de extratos de frutas e conduzir a liberação controlada dos compostos bioativos ao meio durante o armazenamento de produtos, facilitando o seu emprego (HUANG; YU; RU, 2010), o que consiste em aspectos interessantes do ponto de vista tecnológico.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo a obtenção de micropartículas com elevada atividade antioxidante, a partir da otimização da extração dos frutos de acerola, visando avaliar o potencial de aplicação e a efetividade como antioxidante em sistema modelo de emulsão lipídica.

O Capítulo 2 apresenta a revisão bibliográfica sobre oxidação lipídica, antioxidantes naturais e o uso da acerola. No Capítulo 3 são apresentados os resultados da otimização do processo de extração dos compostos antioxidantes dos frutos de acerola. O Capítulo 4 apresenta o processo de microencapsulação do extrato de acerola e a caracterização das micropartículas. E por último, o Capítulo 5 apresenta os resultados da aplicação do extrato otimizado de acerola e das micropartículas em sistema modelo de emulsão.

2. CONCLUSÃO

Foi possível concluir que a otimização foi essencial para a obtenção dos extratos com maior atividade antioxidante, tanto de frutos maduros quanto de frutos verdes. Extratos de frutos verdes destacam-se por sua elevada atividade antioxidante *in vitro*, teor de compostos fenólicos totais e concentração de ácido ascórbico e compostos fenólicos.

As micropartículas obtidas a partir dos extratos de frutos verdes de acerola, com materiais encapsulantes goma arábica e maltodextrina, apresentaram características tecnológicas adequadas para aplicação em alimentos de base lipídica. Micropartículas com goma arábica destacam-se pelo elevado rendimento de processo e maior proteção da atividade antioxidante. Essa proteção garantiu resultados promissores na aplicação em emulsão e avaliação da estabilidade oxidativa. As micropartículas de goma arábica, bem como a mistura de micropartículas apresentaram efeito protetor significativo e semelhante ao antioxidante sintético (TBHQ).

Diante dessas considerações, o extrato microencapsulado produzido a partir de extratos de frutos verdes de acerola apresentou ótimos resultados, mostrando resultados promissores para a aplicação como um aditivo. Apesar disso, deve ser ressaltado a importância de estudos que avaliem a eficácia em diferentes condições e modelos de emulsões, bem como a estabilidade das micropartículas em períodos longos de armazenamento e o possível impacto sensorial de sua aplicação.

REFERÊNCIAS

- BERTON-CARABIN, C.C.; ROPERS, M.-H.; GENOT, C. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: involvement of the interfacial layer. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, p.945–77. 2014.
- CHAN, K.W.; IQBAL, S.; KHONG, N.M.H.; CH'NG, S.E.; BABJI, A.S. Preparation of clove buds deodorized aqueous extract (CDAE) and evaluation of its potential to improve oxidative stability of chicken meatballs in comparison to synthetic and natural food antioxidants. **Journal Food Quality**, v.35, n.3, p.190–199, 2012.
- DECKER, E. A. Antioxidant mechanisms. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B. **Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 2002. p. 517-542.
- DELVA, L.;GOODRICH-SCHNEIDER, R. Antioxidant activity and antimicrobial properties of phenolic extracts from acerola (*Malpighia emarginata* DC) fruit. **International Journal of Food Science and Technology**, n. 48, p.1048-1056, 2013.
- DOOLAEGE, E.H.; RAES, K.; DE VOS, F.; VERHÉ, R.; DE SMET, S. Absorption, distribution and elimination of carnosic acid, a natural antioxidant from *Rosmarinus officinalis*, in rats. **Plant Food for Human Nutrition**, v.66, n.2, p. 196–202, 2011.
- FANG, Z. X., & BHANDARI, B. Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. **Food Chemistry**, v. 129, n. 3, p. 1139-1147, 2011.

- FRANKEL, E.N.; HUANG, S.W.; AESCHBACH, R.; PRIOR, E. Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, p.131–135, 1996.
- GALLEGO, M. G.; GORDON, M. H.; SEGOVIA, F. J.; SKOWYRA, M.; ALMAJANO, M. P. Antioxidant properties of three aromatic herbs (rosemary, thyme and lavender) in oil-in-water emulsions. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.90, n.10, p. 1559–1568, 2013.
- HUANG, Q. R.; YU, H. L.; AND RU, Q. M. Bioavailability and Delivery of Nutraceuticals using Nanotechnology, **Journal of Food Science**, v.75, n.1, p. R50-R57, 2010.
- KARGAR, M; SPYROPOULOS, F.; NORTON, I.T. The effect of interfacial microstructure on the lipid oxidation stability of oil-in-water emulsions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 357, p.527–33, 2011.
- KUBOW, S. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. **Free Radical Biology and Medicine** v.12, n.1, p. 63-81, 1992.
- LI, J.H.; MIAO, J.; WU, J. L.; CHEN, S.-F.; ZHANG, Q.Q. Preparation and Characterization of Active Gelatin-Based Films Incorporated with Natural Antioxidants. **Food Hydrocolloids**, v. 37, p. 166-173, 2014.
- LIMA, V. L. A. G.; PINHEIRO, I. O.; NASCIMENTO, M. S.; GOMES, P. B.; GUERRA, N. B. Identificação de antocianidinas em acerolas do banco ativo de germoplasma da Universidade Federal Rural de Pernambuco. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 927-935, 2006.
- MCCLEMENTS DJ. Chapter Four: Emulsion Ingredients. In: MCCLEMENTS, D.J. (Ed.). **Food emulsions: principles, practices, and techniques**. 2nd Edition. Boca Raton: CRC Press, 2005. p. 515-543.
- MCCLEMENTS, D.J; DECKER, E.A. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 8, p.1270–82, 2000.
- O'BRIEN, R. D. **Fat and oils: formulating and processing for applications**, Third edition, Boca Raton: CRC Press, 2009. 744p.
- PAPUC, C.; GORAN, G. V.; PREDESCU, C. N.; NICORESCU, V. Mechanisms of oxidative processes in meat and toxicity induced by postprandial degradation products: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 16, n.1, p. 96–123, 2017.
- REIS, A.S.; DIEDRICH, C.; MOURA, C.; PEREIRA, D. Physico-chemical characteristics of microencapsulated propolis co-product extract and its effect on storage stability of burger meat during storage at-15 °C [J]. **LWT-Food Science and Technology**, v. 76, n.5, p. 306–313, 2017.
- RIES, D.; YE; A.; HAISMAN, D.; SINGH, H. Antioxidant properties of caseins and whey proteins in model oil-in-water emulsions. **International Dairy Journal**, v. 20, n.2, p. 72–78, 2010.
- RIGHETTO, A. M.; NETTO, F. M. Effect of Encapsulating Materials on Water Sorption, Glass Transition and Stability of Juice From Immature Acerola. **International Journal of Food Properties**, v. 8, n. 2, p. 337–346, 2005.

- RUFINO, M.S.M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v.121, p.996-1002, 2010.
- SAIKIA, S.; MAHNOT, N.K ; MAHANTA, C.L. Optimisation of phenolic extraction from Averrhoa carambola pomace by response surface methodology and its microencapsulation by spray and freeze drying, **Food Chemistry**, n. 171, p. 144–152, 2015.
- SANGUANSRI, L.; AUGUSTIN, M. A. **Microencapsulation in functional food product development**. In SMITH, J.; CHARTER, E. (Ed.), Functional food product development. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2010, p.3-23.
- SHAHIDI, F. **Antioxidants**: Principles and applications. In F. Shahidi (Ed.), Handbook of antioxidants for food preservation Cambridge: Woodhead Publishing Ltd. 2015, p.1-14.
- TAGHVAEI, M.; JAFARI, S.M.; SADEGHI-MAHOONAK, A., MEHREGAN-NIKOO, A.; RAHMANIAN, N.; HAJITABAR, J., MESHGINFAR, N. The effect of natural antioxidants extracted from plant and animal resources on the oxidative stability of soybean oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 56, n.1, p.124-130, 2014.
- TAHERIAN, A. R.; BRITTEN, M.; SABIH, H.; FUSTIER, P. Ability of whey protein isolate and/or fish gelatin to inhibit physical separation and lipid oxidation in fish oil-in-water beverage emulsion. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 5, p. 868-878, 2011.
- VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia puniceifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, v. 71, p. 195-198, 2000.